



Kvantitativa vätskefasmätningar i rötningsprocessen med FT-IR/ATR

**Framställning av kalibreringsdata för att möjliggöra
beräkningar av kvantitativa modeller för bestämning av
processparametrar i rötningsprocessen.**

Kim Lönnqvist

Examensarbete för miljöingenjör (YH)-examen
Utbildningsprogrammet för Miljöteknik
Vasa 2014

EXAMENSARBETE

Författare: Kim Lönnqvist

Utbildningsprogram och ort: Miljöteknik, Vasa

Handledare: Tom Lillhonga

Titel: Kvantitativa vätskefasmätningar i rötningsprocessen med FT-IR/ATR

Datum: 27.02.2014

Sidantal: 42

Bilagor: -

I projektarbetet presenteras kvantitativa modeller, baserade på FT-IR mätningar, för att bestämma processparametrar i en anaerob rötningsprocess. Rötningen gjordes i bioreaktorer placerade i yrkeshögskolan Novias laboratorium Technobotnia.

Under projektets gång användes en FT-IR/ATR maskin för spektroskopiska mätningar samt mjukvaran Matlab och PLS_Toolbox för datahantering.

Språk: Svenska

Nyckelord: biogas, rötningsprocess, vätskefasmätningar, FT-IR, PLS, infraröd spektroskopi, multivariat kalibrering.

BACHERLORS THESIS

Author: Kim Lönnqvist

Degree Programme and location: Environmental Technology, Vaasa.

Supervisor: Tom Lillhonga

Title: Quantitative liquid phase measurements in the digestion process by FT-IR/ATR

Date: 27.02.2014

Number of pages: 42

Appendices: -

The project task consisted of producing calibration data to allow calculation of quantitative models for determination of process parameters in the anaerobic digestion process of two, laboratory scaled, biogas reactors located at Novia University of Applied Sciences in Vaasa.

During the course of the project a FT-IR/ATR machine were used for spectroscopic measurements and the software Matlab and PLS_Toolbox for data management.

Language: Swedish

Key words: Biogas, digestion process, liquid phase measurements, FT-IR, PLS, infrared spectroscopy, multivariate calibration.

Innehåll

1	Inledning.....	1
1.1	Uppgift.....	1
1.2	Arbetsgivare.....	1
1.2.1	Projekt Mare Purum.....	2
2	Anaerobisk rötning.....	3
2.1	Biogas.....	3
2.2	Produktion av biogas.....	3
2.3	Miljövänlighet.....	5
2.4	Användning.....	6
3	Infraröd spektroskopi.....	7
3.1	Introduktion till FTIR.....	7
3.2	Introduktion till ATR.....	8
3.2.1	Svårigheter vid mätning.....	9
3.2.2	ATR kristall.....	11
3.3	Använt mätinstrument.....	12
4	Mjukvara.....	14
4.1	MATLAB.....	14
4.2	PLS Toolbox.....	14
4.2.1	PLS i detta projekt.....	15
5	Prover.....	17
5.1	Processprov.....	17
5.2	Rena komponenter.....	17
5.3	Spetsning av processprov.....	18
5.3.1	Tillverkning av spetslösningar.....	18
5.3.2	Användning av spetslösningar.....	19
6	Utförande.....	21
6.1	Före centrifugering.....	22
6.2	Efter centrifugering.....	23
7	Resultat.....	26
7.1	Processproverna.....	26
7.2	Saltlösningar.....	35
7.3	Diskussion.....	38
8	Sammanfattning.....	38

8.1	Författarens anmärkningar	39
9	Källförteckning.....	40
9.1	Källor	40
9.2	Bilder och Figurer	42

1 Inledning

På grund av en växande befolkning samt vårt ökat beroende på teknik och kommunikation tvingar det oss att bygga nya och större kraftverk för att täcka energibehovet. Tyvärr så vill man gärna dra sig mot snabbt byggda och billiga välbeprövade metoder såsom kol och olja, men allt eftersom vår miljömedvetna tänkande utvecklas så ökar även efterfrågan på ren och grön energi. Fossila bränslen används ännu i allra högsta grad men förnyelsebara resurser är framtiden. Detta projektarbete kommer att behandla en väldigt specifik del av ett ämne, nämligen övervakningen av en biogasreaktor med hjälp av infraröd apparatur.

Biogasreaktorer utnyttjar anaerobisk rötning för bildandet av biogas och det är relativt lätt att övervaka saker som temperatur, att omröringen fungerar och inflödet av substrat. Det som inte är lika lätt är övervakningen av vad som sker med mikroorganismerna inuti reaktorerna och den kemiska sammansättningen. Med hjälp av infraröd spektroskopi kan man lättare övervaka och bestämma olika processparametrar inuti reaktorerna i vätskefasen på ett effektivt sätt.

I projektrapporten berättas det först allmänt om anaerobisk rötning samt infraröd spektroskopi. Senare om hur själva experimenten har gått till väga samt vilken utrustning som använts. Till sist visas resultat över hur IR spektroskopi kan användas för att bestämma halter av olika komponenter i prov tagna från vätskefasen i en biogas reaktor.

1.1 Uppgift

Uppgiften som har utförts och är dokumenterad i denna projektrapport består av att framställa kalibreringsdata för att möjliggöra beräkningar av kvantitativa modeller för bestämning av viktiga processparametrar i rötningsprocessen med ett FT-IR/ATR (= *Fourier Transform Infrared Radiation – Attenuated Total Reflection*) instrument.

Utförandet av mätningarna skedde till största del i augusti 2012.

1.2 Arbetsgivare

Uppgiften har utförts på beställning av Yrkeshögskolan Novias Forskning och Utvecklings enhet. FoU vid Novia har sex fokusområden:

- Hållbar energiteknik
- Naturresursförvaltning
- Fartygssimulation
- Konst, hälsa och välfärd
- Äldres hälsa och livsvillkor
- Serviceinnovation

Dessa sex enheter är utspridda på olika orter i Finland och den enhet, miljö- och energiteknik, som denna uppgift har som beställare finns lokaliserat på Brändö i Vasa. [21]

FoU-Brändös verksamhet riktar sig som namnet antyder in sig på experimentell forskning och projektarbete gällande grön energi och har en stark koppling till det välkända Vasa energikluster.

Eftersom enheten finns i forskningscentret Technobohtnia har den stora möjligheter att samarbeta med kringliggande högskolor och företag samt utnyttja teknisk utrustning för kemiska och tekniska experiment. [22]

1.2.1 Projekt Mare Purum

Mare Purum är namnet på projektet som har beställt denna utredning. Det fokuserar på kemiska, biologiska och spektroskopiska studier av strömmar i biologisk avloppsvattenrening. Syftet är att när projektet avslutas år 2014 kunna tillämpa kunskapen man fått på biologiska avloppsvattenreningsverk tillhörande både privata och kommunala ägare kring Östersjön. Specifikt i Österbotten i Finland och Västerbotten i Sverige som hör till det s.k. Botnia - Atlantica området. Förutom att höja kunskapen och hjälpa till att skydda Östersjön hjälper projektet även till med ökat internationellt samarbete.

De största aktörerna i projektet är Novia, Umeå Universitet, KETEK, Vasa Yrkeshögskola och Sveriges Lantbruksuniversitetet. [4]

2 Anaerobisk rötning

Anaerobisk rötning betyder att mikroorganismer bryter ned organiskt material t.ex. matrester, växthusavfall, svinsväm och dylikt i en anaerob d.v.s. syrefri miljö.

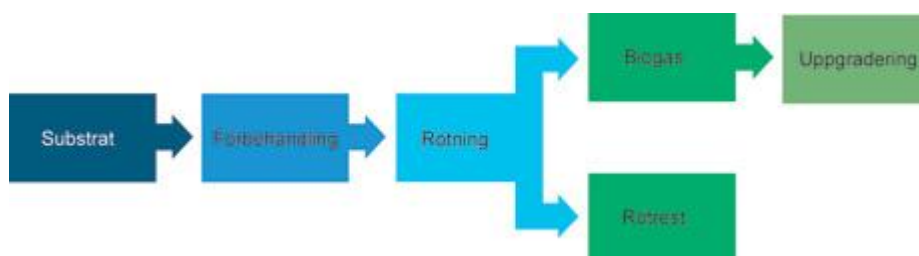
2.1 Biogas

Det går inte att namnge en specifik mikrob som sköter nedbrytningen utan den sköts av ett stort antal olika. Grundmaterialet för biogasen är att det biologiska substratet, substrat är benämningen på materialet som används i biogasreaktorer, bestående av kolhydrater, fetter och proteiner bryts ner och bildar bl.a. metan (CH_4) och koldioxid (CO_2). Den gasen som alla biogasproducenter vill ha är metan, som är biogasens viktigaste beståndsdel och även dess energirikaste. En normalkubikmeter (Nm^3) biogas med en halt på minst 97 % metan har ett energiinnehåll på 9,67 kWh, det kan jämföras med 1 l diesel som har ett energiinnehåll på 9,06 kWh eller 1 Nm^3 naturgas med 11,0 kWh. CO_2 däremot bidrar med ingen energi alls så därför är halten av metan som fås från biogasreaktorerna ytters viktigt att veta och att försöka maximera. [9]

Biogas kan användas till värme- och elproduktion men även till fordonsbränsle. Det viktigaste är att biogasen är förnybar och bidrar inte till att öka mängden CO_2 i atmosfären. [8]

2.2 Produktion av biogas

Som vi kan se i figur 2-1 är det första man behöver någon typ av organiskt material som utnyttjas i den anaeroba rötningen, kallat substrat.



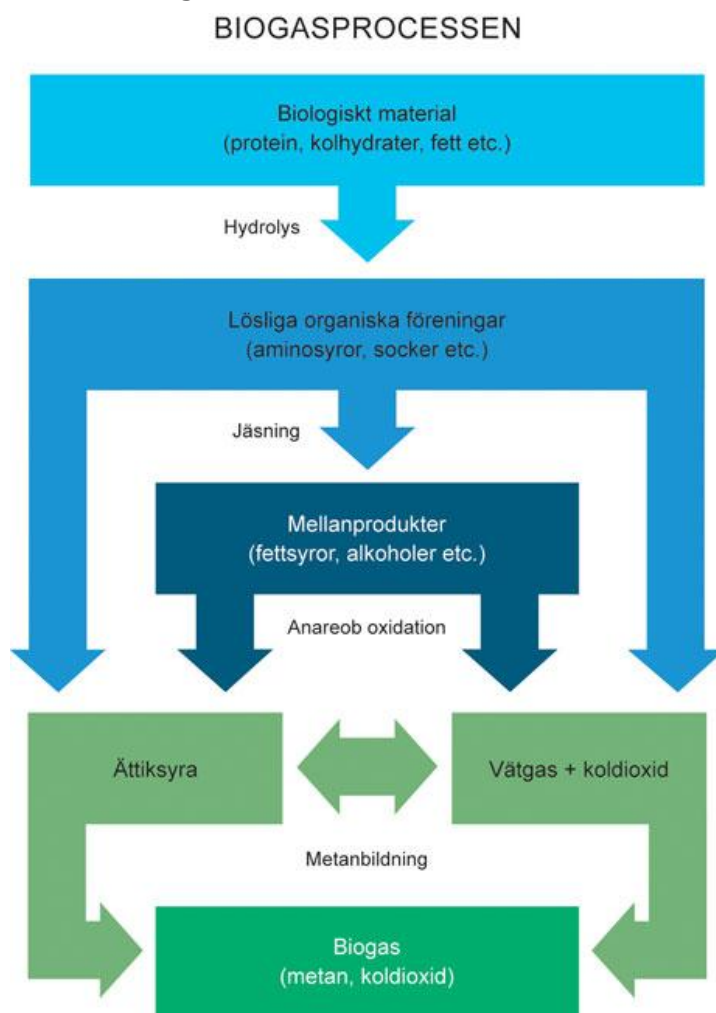
Figur 2-1: Produktionsprocessen av biogas. [11]

Eftersom projektets reaktorer var byggda i laboratorieskala, endast 38 liter, kunde vi utnyttja lokalt material som inte normalt finns i stor utsträckning. Åtminstone inte så att

det går att avhämta stora mängder från en central plats. Exempelvis växthusavfallet finns i stora mängder spritt över ett stort område vid enskilda växthus kilometervis från varandra. I stora biogasverk utnyttjas dock material som redan finns tillgängligt i större utsträckningen såsom avloppsslam; gödsel och växter från bondgårdar; matrester och gammal oanvänd mat från varuhus, fabriker och storkök. I regel får man bästa resultaten om man röter olika material tillsammans.

I vissa fall kan förbehandling krävas t.ex. om substratet inte är tillräckligt finfördelat för att pumpning, mottagningssystem, omrörning och själva rötningen skall fungera optimalt. En stor del av hushållsavfallet från privathushåll och livsmedelsindustrin innehåller både biologiskt material som kan rötas och förpackningar som måste avskiljas före det introduceras till reaktorn. Avloppsslam är för vattenrikt vilket betyder att det tar upp för mycket rum i reaktorn medan annat substrat kan vara för torrt så att man måste tillföra vatten till processen. I alla fall är förbehandlingen viktigt och individuellt varierande från substrat till substrat för att få rötningen att fungera på bästa vis. Den bästa lösningen är förstås att blanda substraten, ett för torrt och ett för utspätt, för att

undvika onödiga mellansteg.



Figur 2-2: Schema över biogasprocessen.

Inuti reaktorerna där själva röttningsprocessen sker indelas processen i tre steg; *hydrolys*, *fermentation* och *metanbildning* vilket kan ses i figur 2-2.

I hydrolysen utnyttjas enzymer och mikroorganismer för att bryta ner långa komplexa organiska föreningar såsom proteiner, kolhydrater och fetter till socker och aminosyror. I fermentationen, också kallat jäsningen, bryts sockret och aminosyrorna ner till alkoholer, fettsyror, CO₂ och vätgas. I metanbildningen ger namnet på steget en bra bild om exakt vad som sker. Här bildas själva metangasen och mikroorganismerna som står för denna process har väldigt specifika krav på pH-värdet, temperaturen samt tillgången till

specifika spårämnen och vitaminer. De måste även ha en helt syrefri miljö, d.v.s. de är anaeroba mikroorganismer.

Det tekniska namnet på gasen som samlas in från toppen av reaktorn kallas rågas därför att den innehåller för stora delar koldioxid, 15-45 %, för att direkt kunna användas som högkvalitets biogas. Processen att avskilja koldioxiden kallas uppgradering. Även små mängder av svavelväten, vattenånga, partiklar och andra föroreningar måste renas bort. Om metanhalten höjs till minst 95 % i biogasen klassificeras den som uppgraderad biogas och det betyder att den kan användas på samma sätt som naturgas.

Det material som kommer ur botten av reaktorn, oftast i en slamliknande konsistens men kan även vara fast eller flytande, kallas rötrest. Rötresten innehåller vatten, näringsämnen, mikroorganismer, biologiskt material som inte har brutits ner och allt material som inte är biologiskt nedbrytbart. Rötresten samlas upp och används vanligen direkt som gödsling eller för vidare behandling till ett företag som tillverkar jordförbättringsmedel. Det enda som måste tas i beaktande är att rötresten inte innehåller gifter såsom tungmetaller eller sjukdomsalstrande mikroorganismer. [11]

2.3 Miljövänlighet

Den viktigaste punkten i denna tid med klimatförändring och global uppvärmning är att förbränning av biogas inte medför något nettotillskott av koldioxid till jordens atmosfär. Även utsläppen av partiklar som kan bilda smog eller bidra till andningssvårigheter för astmatiker är så obetydliga att de kan klassas som försumbara.

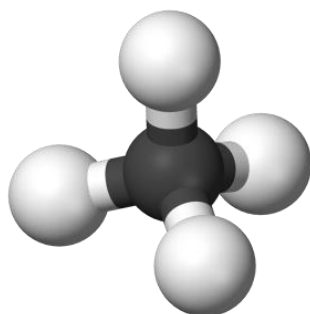
En fördel som gasmotorer har över dieselmotorer som inte påverkar det globala klimatet men snarare lokalmiljön, t.ex. inne i en stadskärna, är att de vibrerar mindre och därmed har minde oljud samt att "avgasen" inte luktar lika obehagligt. [10]

Tack vare dess minskade koldioxidutsläpp bidrar biogasanvändningen till att uppnå EU:s klimatmål till 2020. D.v.s. att minska den Europeiska Unionens CO₂ utsläpp med 20 % från år 1990s nivå, höja energiproduceringen från förnybara resurser till 20 % samt en 20 % förbättring av EU:s energieffektivitet. En indirekt fördel fås från att man ser avfall som en råvara och inte som just avfall, stora summor sparas in på deponerings eller förbränningskostnader beroende på hur avfallet hanterades tidigare.

2.4 Användning

Det finns ett antal metoder som man kan utnyttjas för att ta till vara energin i biogasen eller, som redan nämnts i kapitel 2.2, näringsvärdet i rötresten. Ett exempel i Korsholm är att biogasen från Stormossen används för att värma upp den loka idrottsanläggningen Botniahallen. Biogasen kan även användas för elproduktion, pumpas in till fjärrvärmenätet eller som drivmedel för fordon.

Användningen av biogas som fordonsbränsle är det område som växer snabbast och är populärt att tillämpa på busstrafiken i storstäder i bl.a. Sverige och Tyskland. För att biogasen skall kunna användas som drivmedel måste den ha en halt på minst 95 % metan. Personbilar som använder gasen är oftast s.k. tvåbränslebilar som har två olika tankar och en motor som kan utnyttja både bensin och gas. Tunga fordon däremot som lastbilar och bussar som rör sig mycket i trafiken är allt som oftast anpassade för endast ett sorts bränsle. Bussar är speciellt bra för att driva på gas eftersom de ofta rör sig i städerna och gasmotorerna producerar mindre smog samt att de oftast rör sig på i stora drag i samma begränsade område. I Finland är det stor brist på tankstationer men det påverkar inte lokaltrafiken.



Om man får upp halten metan tillräckligt högt kan metanmolekylen, strukturen ses i figur 2-3, användas som råvara i tillverkning av färger, plast, djurfoder, smörjoljor eller annat som kräver metan. Om företaget producerar egen biogas kan de bli helt självförsörjande på både el och värme. Ytterligare som bonus så brinner metan med en klarare låga så rör och pannor smutsas inte ned av sot och partiklar lika snabbt. [8]

Figur 2-3: En metanmolekyl består av en kolatom och fyra väteatomer.

3 Infraröd spektroskopi

I detta kapitel kommer processen med FTIR – ATR mätningar att förklaras. Förkortningen står för Fourier Transform Infrared Radiation – Attenuated Total Reflection. [17]

3.1 Introduktion till FTIR

Det finns två metoder för infraröda mätningar, nämligen *Transmission* och *Reflection*. Skillnaden mellan dessa är att transmissionsstrålning går rakt igenom ett prov medan reflektionsstrålning reflekteras mot provets yta. Det är enklare att förbereda prov för reflektionsmätningar så det är den föredragna metoden för kvantitativa analyser. Reflektions FTIR tekniken fungerar bäst för vätskor, fasta ämnen, geler och beläggningar; transmissions fungerar bäst för vätskor, gaser och fasta ämnen. [17]

Tabell 3-1: Tabell över vanliga funktionella grupper och våglängden som de absorberas på. [14]

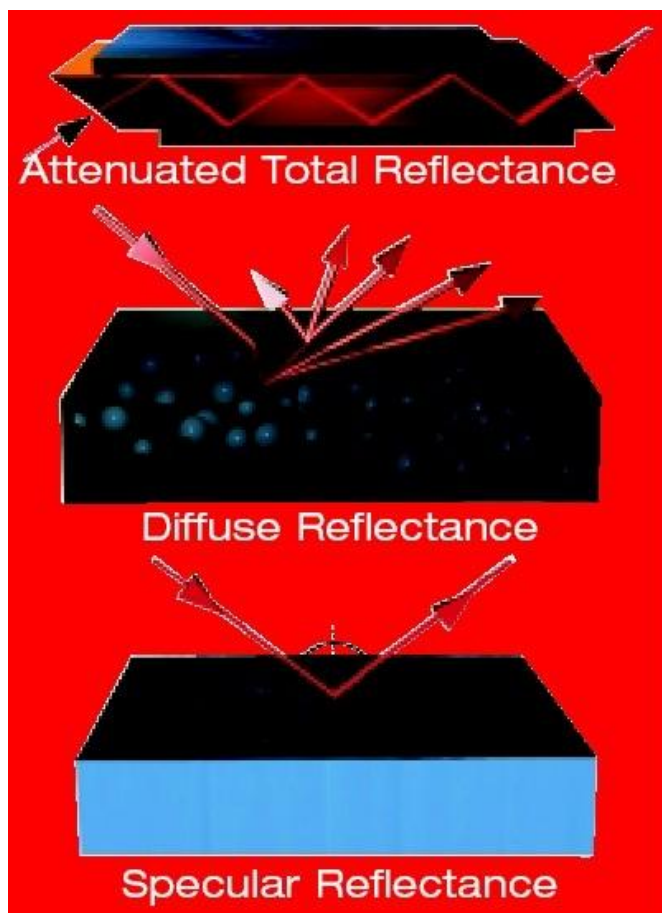
Funktionell grupp	Absorptionsområde (cm ⁻¹)
O-H	3650-3590
N-H	3500-3300, 1650-1590, 900-650
=CH-H	3100-3070, 1420-1410, 900-880
=C-H	3100-3000, 2000-1600
=CH ₃	2880-2860, 2970-2950, 1380-1370, 1470-1430
O=H	2700-2500, 1320-1210, 950-900
C≡C	2140-2100,
C=O	1750-1700
C=C	1600-1500
C-N	1340-1250
C-O-C	1200-1180
-C-H	770-730

Varje mellanprodukt i den biologiska nedbrytningsprocessen kan identifieras med en IR mätapparat p.g.a. att varje produkt har en specifik absorption i det infraröda spektrumet. Spektrat i bild 3-1 visar absorption på Y-axeln, det visar hur en specifik funktionell grupp absorberar strålningen på en viss våglängd inom det infraröda området för ljusvågor. Identifiering av ämnen från spektrat sker på så sätt att man använder kända toppar för rena komponenter eller tidigare kända ämnen eller funktionella grupper som kan ses i tabell 3-1 som referens. T.ex. i biogasreaktorer där man vill kontrollera processen upprepade gånger över flera år kan man ha ett optimalt spektra som referens och använda det för att hitta skillnader i rötningarna eller från en tidpunkt till en annan. [13]

Istället för att söka efter varje ämne individuellt går det både snabbt och enkelt att hitta dessa tack vare FTIR mätningar, det är även mycket billigare i längden även om det kräver en dyr investering inledningsvis för instrumentet. [16]

3.2 Introduktion till ATR

Om man ännu specialiserar sig på reflektionsmetoden finns det tre metoder att ta till, *Attenuated Total Reflection (ATR)*, *Specular Reflection (SR)* och *Diffuse Reflection (DRIFT)*. SR används för jämna ytor och DRIFT för grova ytor. Som vi ser i figur 3-1 samlar ATR in information från provets yta, DRIFT från en bulk matris samt SR från ett ytterst smalt skikt vid ytan.



Figur 3-1: Skillnaderna på reflektions strålning. [17]

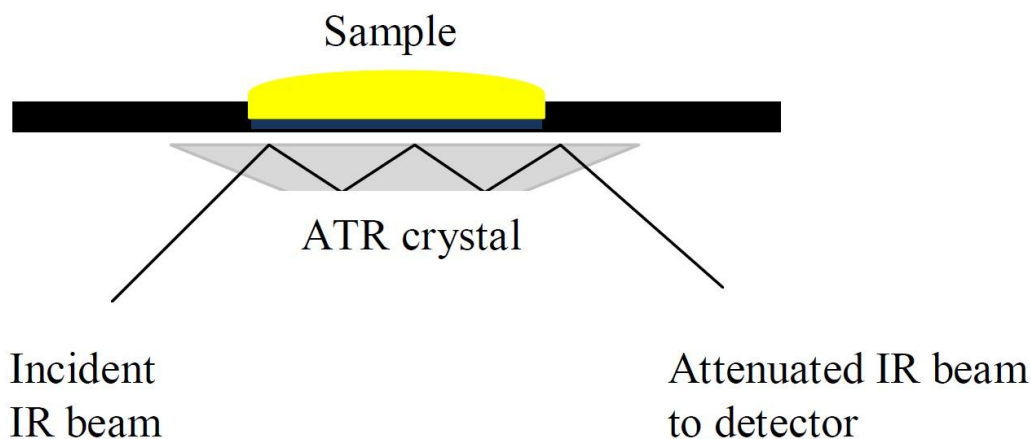
SR provet måste placeras på en reflektiv yta eller så måste materialet i sig själv vara reflekterande. DRIFT fungerar bäst på pulver och fasta ämnen. ATR provet måste vara i kontakt med kristallen under provtagningen. [17]

Det speciella med ATR jämfört med mera traditionella infraröda mätningar är att den infraröda strålen inte rör sig igenom proven utan endast reflekteras mot det. D.v.s. den mäter förändringar på själva strålen efter att den kommit i kontakt med provet.

I ändan av armen som syns i bild 3-2 finns en liten diamant som kallas ATR kristall. I figur 3-2 ser man hur den inkommande strålen rör sig i kristallen som kan bestå av diamant, zink, germanium eller selenid. I detta projektarbete användes en diamant

ATR kristall, i kapitel 3.2.2 gås det närmare in på kristallens roll. Den inkommande strålen kallas *Incident stråle* och den utgående för *Försvagad stråle*. När incidentstrålen

träffar kristallen bildas en försvagande våg som penetrerar själva provet till ett djup av 0,5-10 μm . P.g.a. det grunda penetrationsdjupet måste proven vara i bra kontakt med kristallen och det är viktigt att kristallen är totalt fri från föroreningar och den får inte heller ha kontakt med luft. I de områden som den försvinnande vågen absorberar energi kommer det att upptäckas och synas i en graf som bildas i datorn efter att mätningen avslutats. [1] [15]



Figur 3-2: Inkommande och utgående infraröd stråle. [1]

I denna studie tog en mätning 53 sekunder och totalt mättes ca 500 prov men alla prov skulle tas i flera omgångar så antalet provtagningar blev ca 2000.

3.2.1 Svårigheter vid mätning

Det finns några aspekter av mätningarna som gör de svår genomförda men med noggrannhet och rutin kan man fortfarande få tillförlitlig data av hög kvalitet. [1]

En av de viktigaste komponenterna i det infraröda mätinstrumentet är kristallen. Den måste ha ett brytningsindex (n) som är större än provet. Brytningsindex definieras enligt nationalencyklopedin som ljusets hastighet i ett ämne i förhållande till ljusets hastighet i vakuum. Det anger även ett ämnes förmåga att bryta ljus. I detta fall diamant som har ett brytningsindex på 2,42. [20]

Vinkeln på incident IR strålen måste stämma och den räknas ut med formeln:

$$\theta = \sin^{-1} \left(\frac{n_{\text{prov}}}{n_{\text{diamant}}} \right)$$

Där θ representerar vinkel och n brytningsindex för provet och kristallen. Om inte vinkeln är rätt kommer IR strålen inte att reflekteras tillbaka till instrumentet. Se bild 3-1 för ett exempel på hur datorprogrammet och spektra kan se ut.

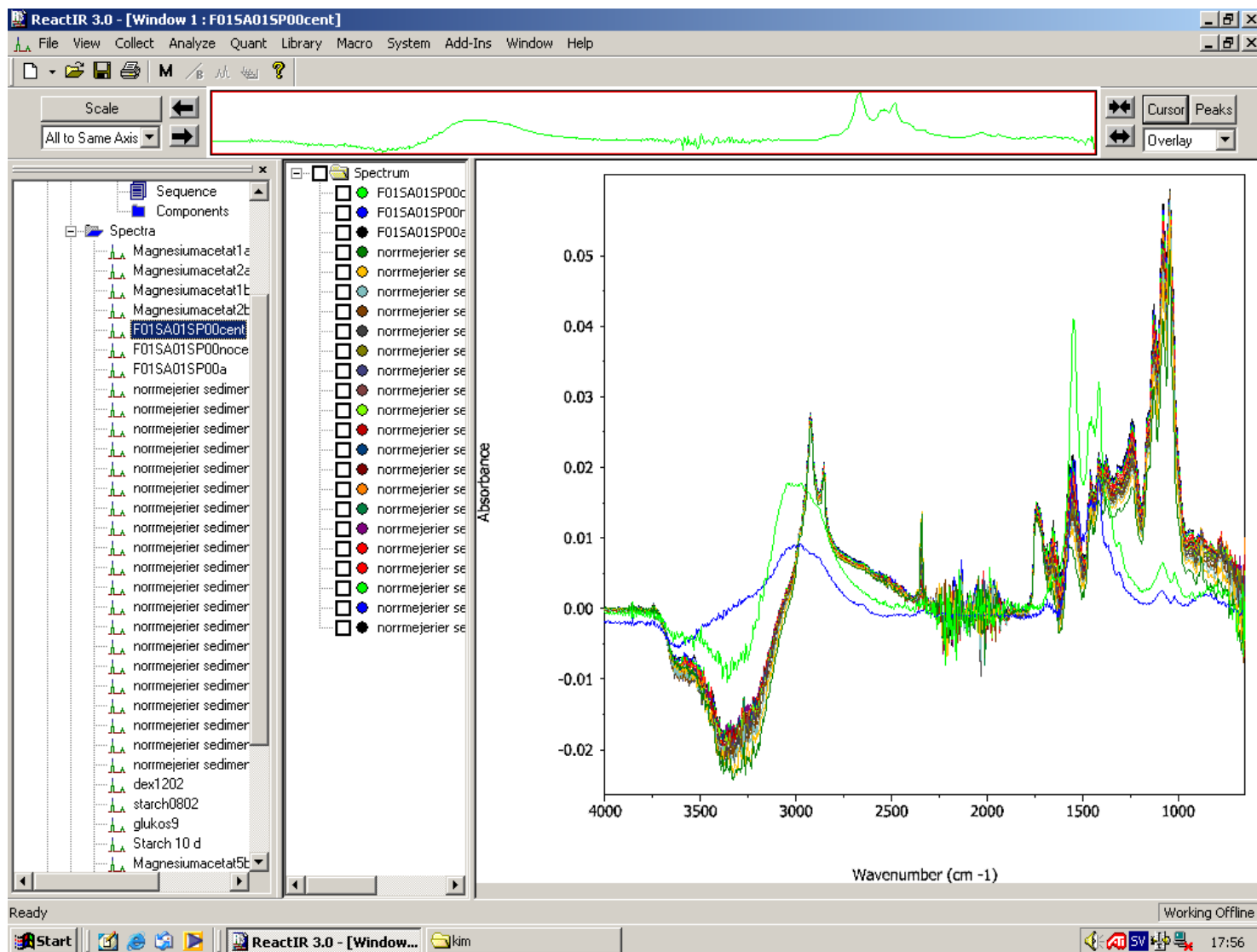


Bild 3-1: Ett exempel på spektrum. Detta spektrum relaterar inte till projektarbetets prover.

Det är viktigt att rengöra diamanten efter varje provtagning för att förhindra missvisande mätningar vid nästa spektrum. I denna studie tvättades diamanten med destillerat vatten och tops efter varje provtagning. Latexhandskar användes hela tiden i kontakt med utrustningen. Diamanten får heller inte komma i kontakt med luft eller något annat material än själva provet under mätningens lopp. Därför sänktes mätsensorn helt i proverna före centrifugeringen och diamanten täcktes helt i proverna efter centrifugeringen eftersom då fanns det endast några milliliter att tillgå och därför

inte tillräckligt för att sänka sensorn som tidigare. Skillnaden och metoden kan observeras i bild 3-2. [20]



Bild 3-2: Skillnaderna i mätmetod före och efter centrifugering av prover.

3.2.2 ATR kristall

En av de otvivelaktigt viktigaste komponenterna i mätinstrumenten är ATR kristallen. I tabell 3-2 finns en jämförelse med några av de vanligaste materialen som kristallen kan tillverkas av samt deras egenskaper. AMTIR är ett blandmaterial bestående av germanium, arsenik och selen.

Tabell 3-2: Tabell över några av de vanligaste kristaller materialen och dess egenskaper. [17]

Material	Spektralt område (cm ⁻¹)	Brytningsindex (n)	Penetrationsdjup (vid 45° och 1000 cm ⁻¹) (µm)
Germanium	5 500 – 675	4	0,66
Silicon	8 900 – 1 500 & 360 – 120	3,4	0,85
AMTIR	11 000 – 725	2,5	1,77
ZnSe	15 000 – 650	2,4	2,01
Diamant	25 000 – 100	2,42	2,01

Diamant används allmänt för en lång rad av olika prov och fungerar bra för alla oberoende av t.ex. aciditet eller i vilket medium provet finns. Diamant är även mycket tåligt till nötning och skador. Nackdelen är förstås att det är väldigt dyrt men det finns möjligheter att hyra instrument om man endast planerar att använda det en begränsad tid. Projekt Mare Purum hyrde in ett instrument från Åbo Akademi.

3.3 Använt mätinstrument

I bild 3-3 syns mätinstrumenten som använts under alla IR mätningar. Det är en *ASIReactIR 1000 Fourier Transform Infrared Spectrometer* tillverkat av ASI Applied Systems i Millersville i USA. Spektrometern var utlånad från Åbo Akademis kemisk-tekniska enhet i Åbo till projekt Mare Purum. Nere till vänster i bild 3-3 syns även en silverfärgad behållare innehållande flytande kväve som användes som kylning tills spektrometers detektor som är tillverkad av kvicksilver, kadmium och tellurium. ATR kristallen var diamant och mjukvaran som medföljer är ReactIR 3.0.2.0. [2]



Bild 3-3: ASI ReactIR 1000 Fourier transform infraröd spektrometer.

4 Mjukvara

Vartefter tekniken och nya datorprogram utvecklas som är kapabla av att samla in stora mängder av mätvärden samtidigt krävs även analyseringsverktyg som kan hantera informationen.

4.1 MATLAB

Matlab är ett vida använt datorprogram för numeriska analyser, beräkningar och programmering som används av hundratusentals ingenjörer, forskare och andra anställda inom den tekniska branschen. Det är designat för att vara effektivare än andra programmeringsspråk, t.ex. java, tack vare alla verktyg och inbyggda funktioner som kan lösa eller analysera komplicerade matematiska problem. [18]

De viktigaste funktionerna som Matlab erbjuder är:

- High-level language for numerical computation, visualization, and application development
- Interactive environment for iterative exploration, design, and problem solving
- Mathematical functions for linear algebra, statistics, Fourier analysis, filtering, optimization, numerical integration, and solving ordinary differential equations
- Built-in graphics for visualizing data and tools for creating custom plots
- Development tools for improving code quality and maintainability and maximizing performance
- Tools for building applications with custom graphical interfaces
- Functions for integrating MATLAB based algorithms with external applications and languages such as C, Java, .NET, and Microsoft® Excel® [19]

4.2 PLS Toolbox

PLS tar sitt namn från *Partial Least Squares regression method* och är en toolbox till programmet Matlab och kan inte användas på egen hand. PLS kräver minst MATLAB 7.x eller högre och det fungerar på alla operativsystem som klarar av Matlab inklusive Windows, MacOS, Unix och Linux. Senaste versionen av PLS är 7.5.2. som har utgetts i januari 2014. Inom sin nisch är PLS det bästa alternativet för avancerade kemometriska multivariata analyser. Med det menas att PLS kan behandla statistisk data som består av många variabler som skall analyseras gemensamt, istället för en och en, i kemiska

processer. Man får ett bättre resultat om man undersöker variablerna som en helhet i form av matriser eller vektorer istället för enskilt. Redan namnet antyder på vad som är programmets funktion eftersom regression metoden är process för att uppskatta samband mellan variabler och den används ofta till att förutspå händelser baserat på de givna mätvärdena.

De yrken som ofta använder sig av PLS är kemiingenjörer, analytiker inom kemi och andra forskare som fokuserar på analysering. [19]

De viktigaste funktionerna som PLS erbjuder är:

- Data Exploration and Pattern Recognition (Principal Components Analysis (PCA), Parallel Factor Analysis (PARAFAC), Multiway PCA, Tucker Models...)
- Classification (SIMCA, k-nearest neighbors, PLS Discriminant Analysis, Support Vector Machine Classification, Clustering (HCA)...))
- Linear and Non-Linear Regression (PLS, Principal Components Regression (PCR), Multiple Linear Regression (MLR), Classical Least Squares (CLS), Support Vector Machine Regression, N-way PLS, Locally Weighted Regression, Polynomial PLS...)
- Design of Experiment (DOE) tools for designing and analyzing experiments
- Self-modeling Curve Resolution, Pure Variable Methods (Multivariate Curve Resolution (MCR), Purity (compare to SIMPLSMA), CODA_DW, CompareLCMS...)
- Curve fitting and Distribution fitting and analysis tools
- Instrument Standardization (Piece-wise Direct, Windowed Picewise, OSC, Generalized Least Squares Preprocessing...)
- Advanced Graphical Data Set Editing and Visualization Tools
- Advanced Customizable Order-Specific Preprocessing (Centering, Scaling, Smoothing, Derivatizing, Transformations, Baselineing...)
- Missing Data Support (SVD and NIPALS)
- Variable Selection (Genetic algorithms, IPLS, Selectivity, VIP...) [6]

4.2.1 PLS i detta projekt

Först används ett Matlab script för att omstrukturerar datan från IR mätningarna för input till PLS_Toolbox. Innan programmet används så skiljer man på X-block och Y-block och det är alltså meningen att hitta korrelationen mellan dessa. Efter att datan analyserats beräknas olika parametrar för att beskriva hur bra modellen är. RMSEC (= *Root Mean Squares Error of Calibration*), RMSECV (= *Root Mean Squares Error of Cross Validation*) och RMSEP (= *Root Mean Squares Error of Prediction*) är sådana parametrar som beskriver noggrannheten. RMSEC och RMSECV beskriver hur bra PLS modellerna

passar in på kalibreringsdatan medan RMSEP beskriver noggrannheten på valideringsdatan.

I X-blocket laddas spektrum datan upp och i Y-blocket den motsvarande referensdatan. Efter att det laddas upp väljer man den s.k. förbehandlingsmetoden som i dessa mätningar betyder derivata, autoscale eller mean center. Autoscale innebär att man subtraherar medelvärdet från varje spektrum och dividerar med standardavvikelsen och mean center betyder att man tar bort medelvärdet. Nästa steg är att välja korsvalideringsmetod som betyder att man väljer en metod för att få en lämplig mängd PLS komponenter och för att få en bra modell, den vanligaste metoden kallas *venetian blinds*. Metoden innebär att varje X'te objekt i datasettet väljs med jämna mellanrum. [7]

Efter att allt är inställt så ger PLS_Toolbox en modell och RMSEC och RMSECV värdena som kan ses i kapitel 7. Det är oftast nödvändigt att prova flera förbehandlingsmetoder för att få så bra resultat som möjligt.

När modellen är som bäst laddas valideringsdata upp till programmet som används för att bäst kolla modellens noggrannhet när det gäller förutspående av prov med okänd koncentration.

5 Prover

Detta kapitel kommer att göra det lättare att förstå vad som processproverna innehåller, var och hur de tagits ifrån samt hur de har blivit spetsade. Alla förberedelser var redan gjorda innan detta examensarbete inleddes. Samma prov som i Marco Dörings avhandling har använts utan modifiering, se källhänvisning nummer 5.

Sammanfattningsvis kom proverna från två reaktorer i laboratorieskala på 38 l under konstant omrörning. Biogasreaktorer fylls aldrig fullständigt och dessa var fyllda till 27 l. Mikroorganismerna eller "kulturen" på 3 l som används för att starta nedbrytningen togs från Ab Stormossen Oy. Substratet bestod av 2/3 svinsväm, 1/6 fiskrens och 1/6 växthusavfall. [3]

Speciellt svinsväm som substratet till största del bestod av har länge sett som endast en restprodukt. Förutom fördelarna med minskade växthusgasutsläpp och bildandet av biogas så är rötresten från anaerobisk rötnings bättre än ren svinsväm att använda som gödsling. Det luktar mindre så därför stör det minde människor som bor i närheten och det har även en lägre koncentration av organisk förorening så därför är det bättre för odlingsmarken i.o.m. att det är en minskad risk för giftskador på skörden. [12]

5.1 Processprov

Varannan eller var tredje dag används en vakuumpump för att ta en liter från vätskefasen i biogasreaktorerna. Den litern delas sedan upp i 14 stycken 100 ml plastflaskor med 50 ml i varje flaska och placerades för förvaring i en frys efter att de noggrant märkts med vattenfast tusch. Den mängd som blir över av vätskefas provet sparades även det i frysen för senare bestämning av ammoniumhalt och torrsubstanshalt. För exakt utförande av dessa experiment se Marco Dörings avhandling kapitel 5.2 för bestämning av ammoniumhalt och 5.3 för bestämning av torrsubstanshalt. Totalt togs 33 processprov som delades upp i 14 prov vardera som totalt blev 462 mätflaskor innehållande processprover. [5]

5.2 Rena komponenter

Från rena komponenter, i detta fall ammoniumklorid, ammoniumsulfat, kalciumpropionat, magnesiumacetat, natriumacetat och natriumpropionat får man pure spectra som kan användas för jämförelse med spektrumen som man senare får vid

mätning av reaktorproverna. Det finns databaser över vilka ämnen som har vilka toppar, d.v.s. vad deras våglängd är men det är även en bra idé att ta specifik data för varje enskilt instrument.

5.3 Spetsning av processprov

Med spetsning menas att man tillsätter en analyt med känd mängd till en matris som är liknande eller identisk med processproven. Valet av beståndsdelar för spetsningen berodde på förväntade höga halter av liknande ämnen i processproverna samt att beståndsdelarna skulle vara molekylärt definierade. Därför valdes ammonium, acetat och propionat samt att kalibreringsmodeller för TVFA (= Total Volatile Fatty Acids) bedömdes. Även om beståndsdelarna valdes primärt med tanke på Marco Dörings NIR (=Near Infrared Spectroscopy) mätningar så är de även viktiga för den anaeroba nedbrytningsprocessen i biogasreaktorer. Exempelvis behövs ammonium för tillväxt av mikroorganismer samtidigt som för mycket ammonium försämrar bildandet av biogas. [3]

5.3.1 Tillverkning av spetslösningar

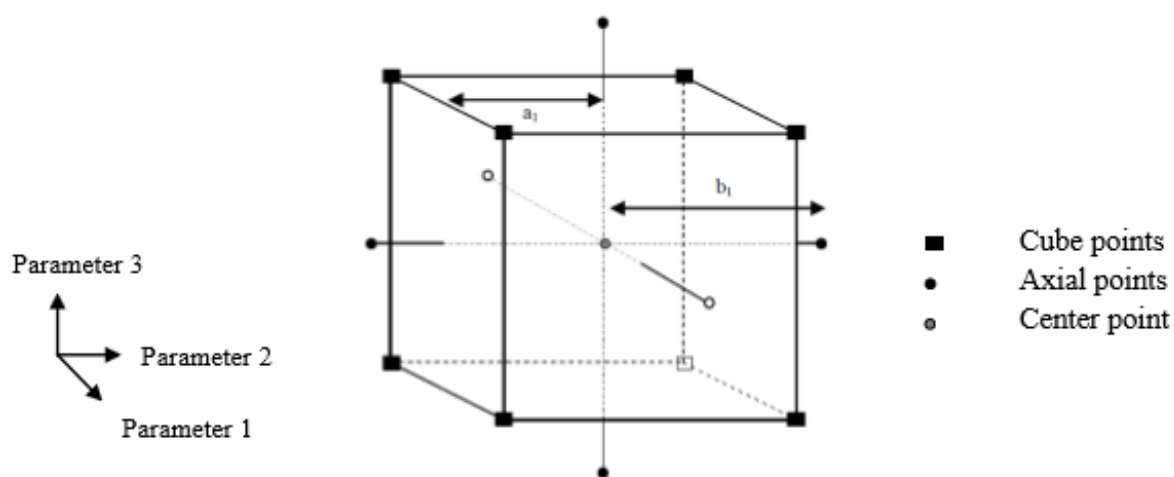
För att få ammonium-, acetat- och propionat lösningar användes ammoniumsulfat, magnesiumacetat och kalciumpropionat salter för respektive lösning. 600 ml destillerat vatten placerades i en behållare och en exakt mängd salt (uträknat med dator) löstes upp med hjälp av en uppvärmd magnetorrörare. En uppvärmd magnetorrörare fungerar så att man placerar en stavmagnet i behållaren som sedan placerar ovanpå en uppvärmd platta med roterande magnetfält som gör att stavmagneten i behållaren roterar snabbt och därmed rör om lösningen. Efter att man kunde se att allt salt var upplöst fylldes alla behållare på tills de innehöll exakt 750 ml saltlösning med en koncentration på 100 g/l av respektive salt. För varje av dessa tre salter tillverkades senare tre serier på olika lösningar vardera där koncentrationen varierade mellan 0,5 g/l till 5 g/l.

Förutom dessa tre serier användes även ammoniumklorid, natriumacetat samt natriumpropionat salter på samma sätt för att vardera bilda en 200 ml lösning med en koncentration på 5 g/l. Skillnaden här var att man tömde 170 ml destillerat vatten i de tre flaskorna, använde den uppvärmda magnetorröraren tills alla salt var upplöst och sedan fyllde på till man hade exakt tre gånger 200 ml. Dessa lösningar späddes sedan ut ytterligare för att bilda samma typ av serier som tidigare nämnts med koncentrationer

från 0,5 g/l till 5,0 g/l lagrade i 50 ml mätflaskor. Alla lösningar ökar med 0,5 g/l för varje steg. [3]

5.3.2 Användning av spetslösningar

Spetsningen av processproven gjordes enligt metoden *central composite design* vilket utnyttjar en kubisk visualisering av spetsnings schemat, det kan ses i figur 5-1. Längden av en av sida motsvarar 5 g/l i koncentration eller 2 i kod. Se tabell 5-1 för innebörden i detta.



Figur 5-1: Visualisering av spetsningen av processproven. [5]

Det är meningen att spetsningen skall vara helt ortogonal, som kuben visar, men p.g.a. att processproven alltid innehåller en lite del av spetslösningarnas beståndsdelar kan det bli lite skevt.

I tabell 5-1 ser man hur spetslösningarna användes i praktiken utgående från kubens design. Tabellen visar de kodade koordinater i kuben, spetslösningens koncentrationen i g/l samt volymen av original spetslösningen som användes i en serie av processprover.

Tabell 5-1: Spetsningsschemat i siffror. Prov 0 spetsas inte, övriga enligt schemat. 14 prov bildar en serie. [3]

	Kodad koordinat			Spets koncentration (g/l)			Spetslösningens volym (ml)		
Prover	Ammonium	Acetat	Propionat	Ammonium	Acetat	Propionat	Ammonium	Acetat	Propionat
0	-1	-1	-1	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	-1	-1	1	0,0	0,0	5,00	0,00	0,00	2,63
2	-1	1	-1	0,0	5,0	0,00	0,00	2,63	0,00
3	-1	1	1	0,0	5,0	5,00	0,00	2,78	2,78
4	1	-1	-1	5,0	0,0	0,00	2,30	0,00	0,00
5	1	-1	1	5,0	0,0	5,00	2,78	0,00	2,78
6	1	1	-1	5,0	5,0	0,00	2,78	2,78	0,00
7	1	1	1	5,0	5,0	5,00	2,94	2,94	2,94
8	0	0	-1	2,5	2,5	0,00	1,32	1,32	0,00
9	0	0	1	2,5	2,5	5,00	1,39	1,39	2,78
10	0	-1	0	2,5	0,0	2,50	1,32	0,00	1,32
11	0	1	0	2,5	5,0	2,50	1,39	2,78	1,39
12	-1	0	0	0,0	2,5	2,50	0,00	1,32	1,32
13	1	0	0	5,0	2,5	2,50	2,78	1,39	1,39

Referensmätningar togs enligt diverse metoder för att få fram ammonium-, VFA-, och TVFA koncentrationen. Alla referensmätningar gjordes två gånger för att få fram standardavvikelsen. Koncentrationen av beståndsdelarna i de spetsade proverna var beräknade enligt mängden av varje beståndsdel tillsatt i varje spetsning och den volymökning som provet fick p.g.a. spetslösningen tillsatt till volymen och resultatet från referensmätningarna av processproven. [3]

6 Utförande

Uppgiften gick ut på att framställa kalibreringsdata med FT-IR/ATR så att det skulle vara möjligt att beräkna kvantitativa modeller för bestämning av viktiga processparametrar i rötningsprocessen. Mätningarna skulle även testas genom realtidsmätningar på processen. Ett prov bestod av en 100 ml plastflaska förvarad med sitt set på 14 prov nedfrysta i blå plastpåsar se bild 6-1 för bild över den fryslagringen.



Bild 6-1: Förvaring av prov i frysen.

Ett prov var det s.k. nollprovet som endast innehöll reaktorprovet, de övriga tretton var spetsade i varierande grad. Det fanns totalt 33 uppsättningar med 14 prov i vardera som alla skulle mätas fyra gånger var. Förutom dessa totalt 462 prov kom referensproven s.k. "pure spectra" med rena komponenter som det fanns totalt 30 stycken av. Pure spectra proverna skulle endast mätas två gånger var medan reaktorproverna skulle mätas fyra gånger, två gånger direkt från fryslagringen och två gånger till efter centrifugeringen. Totalt blev det närmare 2000 mätningar.

6.1 Före centrifugering

För varje av de 462 proven skulle två av spektras tas med provet fortfarande i 100 ml flaskorna. I bild 6-2 syns det hur proverna organiserades för att minska på risken på att de mättes i fel ordning, detta hände inte. Mätningen utfördes i ordning höger till vänster med nollprovet som första.

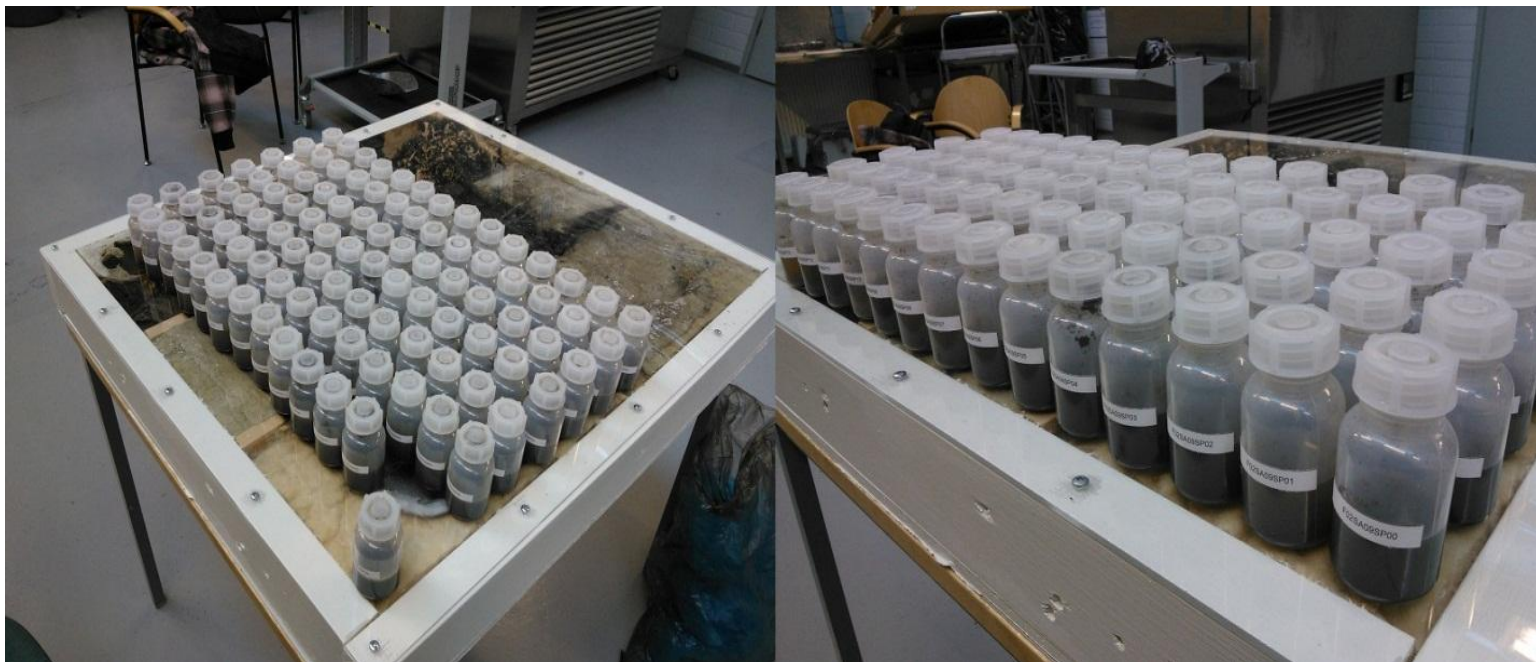


Bild 6-2: Organisering av prover innan mätning.

På vänstra sidan i bild 6-2 kan man se hur ett prov har lyfts fram, då ett prov har mätts klart flyttas det fram för att bilda en ny rad. Det är en mycket simpel metod för att hålla reda på vilka prov man redan har utfört mätningen på. Efter att de två första spektra har tagits går man vidare till nästa steg som går ut på att med hjälp av en mikropipett avlägsna 1,5 ml av provet från 100 ml flaskan och placera det i ett 1,5 ml eppendorfrör. I bild 6-3 ser man en uppsättning med prov i ordning. En ny spets till mikropipetten, höger i bild, har lagts fram för varje prov för att undvika korskontaminering. Eppendorfröret placeras sedan i en centrifug för att centrifugeras i fem minuter i en hastighet av 13 000 rpm. Bild 6-5 innehåller en bild på centrifugen. I bild 6-3 ser man även hur proverna organiserades för att hålla koll på vilket eppendorfrör hörde till vilken mätflaska. Eppendorfrören har märkts med samma kod som finns på mätflaskorna.



Bild 6-3: Uppradning av ett set med prover för överföring till eppendorfrör.

Eftersom IR maskinen måste ställas om från flaskor till rör var det omöjligt att mäta dessa samtidigt då proverna redan var upptinade. Snöret som syns i bild 6-3 och 6-4 används till att fästa proverna i varandra med sitt eget set i korrekt ordning, det färdiga resultatet kan ses i figur 6-4. Tack vare denna enkla metod kunde eppendorfrören frysas ner igen utan problem och sedan tinas upp då följande två spektra skall mätas. Skillnaden i mätmetod för mätflaskorna och eppendorfrören var IR maskinens "arm" som syns i bild 3-2. Det viktigaste är att mätkristallen, som sitter i ändan på armen i en liten fördjupning, är helt täckt av provet utan föroreningar och utan kontakt med luften. När kristallen helt kunde sänkas ned i provet, som kan ses till vänster i bild 3-2 var det endast nödvändigt att se till så att mätkristallen rengjordes mellan varje prov. Till höger i bild 3-2 ser man att förutom rengöringen måste man se till att fördjupningen i ändan på armen är täckt.

För varje prov togs två spektrum och då var det inte nödvändigt att avlägsna provet mellan dessa. Då provet skulle bytas var det viktigt att rengöra mätkristallen med destillerat vatten, tops och pappershanddukar för att förhindra korskontaminering mellan proverna vilket skulle ge oanvändbar och falsk data. Det finns även en möjlighet att luftbubblor kan lämna kvar på mätarmens spets och det är förstås omöjligt att se genom det grumliga provet men om så är fallet så syns det i spektret och man behöver endast skaka om provet för att avlägsna luftbubblan och ta ett extra spektra.

6.2 Efter centrifugering

Då det kommer till eppendorfrör var mätningen lite knepigare och förutom rengöringen och luftbubblor måste man även se till så att det finns en tillräckligt stor mängd prov på

mätarmens spets för att helt fylla fördjupningen där mätkristallen finns. I bild 3-2 till höger syns det hur armen har ändrat position, den har vikts uppåt för att fördjupningen där mätkristallen finns skall kunna hålla endast en ytterst liten mängd av provet. Det använder inte ens hela mängden i eppendorfröret, så länge som kristallen är täkt är det bra.



Bild 6-4: Hur ett set av prov i eppendorfrör lagrades i frysen.

Då det gäller proverna i eppendorfrören kan de inte genast tinas och mätas utan de måste som tidigare nämnt även centrifugeras i fem minuter med en hastighet av 13 000 rpm. Centrifugen kan ses i figur 6-5 tillsammans med två set av prov. Det set som finns i den övre raden har ännu inge centrifugerats som man kan se på deras ännu mycket mörka färg. Färgen kommer från små partiklar i provet som senare kommer att pressas till botten av eppendorfrören av centrifugen. I det set som finns i den nedre raden kan man tydligt se små svarta "prickar" på botten av eppendorfrören, det är partiklarna som har pressats dit. Längt till vänster i den övre raden kan man även se några rör som är helt genomskinliga. De är endast utfyllnadsrör innehållande vatten eftersom centrifugen håller exakt 18 rör och i varje set finns endast 14. Utan utfyllnadsrör är inte centrifugen i jämvikt och den finns en risk för att den kan skaka sönder p.g.a. dess höga rotationshastighet om den inte ligger i jämvikt.



Bild 6-5: Fyllda eppendorfrör samt centrifugen.

Efter att ett set har centrifugerats klart tar man som tidigare ett prov i taget, denna gång med en mikropipett, och placerar en såpass stor mängd i mätkristallens fördjupning att den täcks helt. Då tas som vanligt två spektrum och sedan sköljs kristallen rent med destillerat vatten och torskas med tops och pappershanddukar. Det är även här viktigt att mäta proverna i rätt ordning.

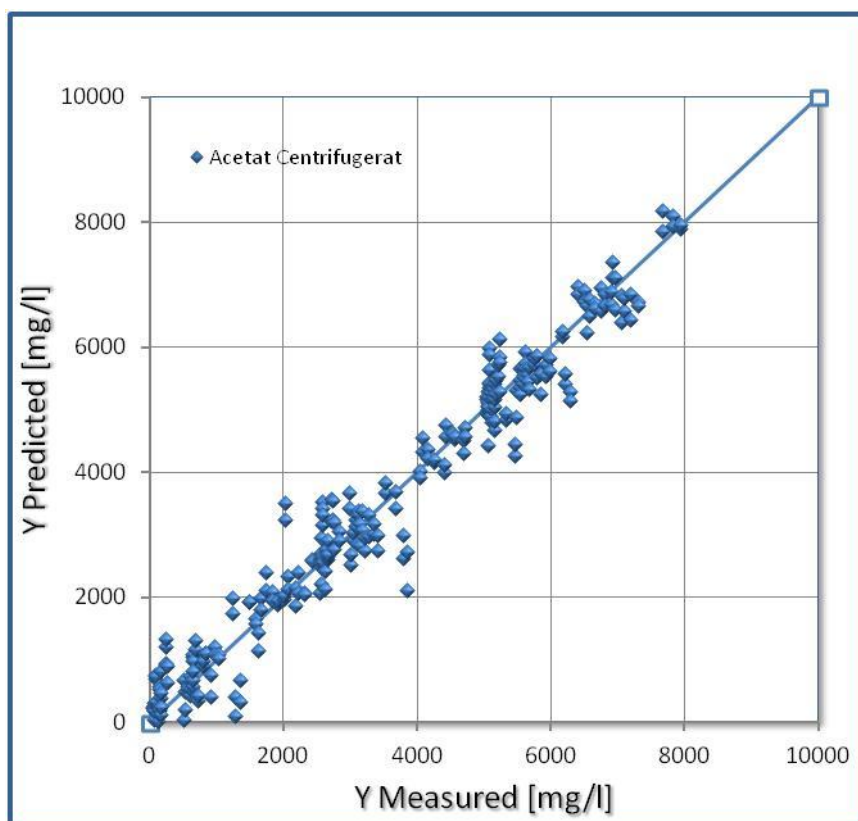
Vid dagens slut sätts alla prov som skulle mätas tillbaka i sina respektive påsar och tillbaks till frysen. De prov som skall mätas nästa dag tas istället ur frysen för upptining. Eppendorfrören kommer med största sannolikhet inte att användas igen men för att vara på den säkra sidan får de stanna kvar i frysen en viss tid.

7 Resultat

I detta kapitel behandlas resultaten från alla mätningar. Resultatet från referensmätningarna på ammonium, acetat, propionat, TVFA samt torrsubstans halten i processproven kan ses i Marco Dörings avhandling på källhänvisning nummer fem.

7.1 Processproverna

För att kunna tolka tabellerna och graferna 7-1 till 7-8 krävs en kort förklaring om vad de innehåller. I tabellerna ser man på X-axeln koncentrationen av ämnen som hittats i processprovet jämfört med Y-axeln där den koncentration som PLS_Toolbox har beräknat finns.



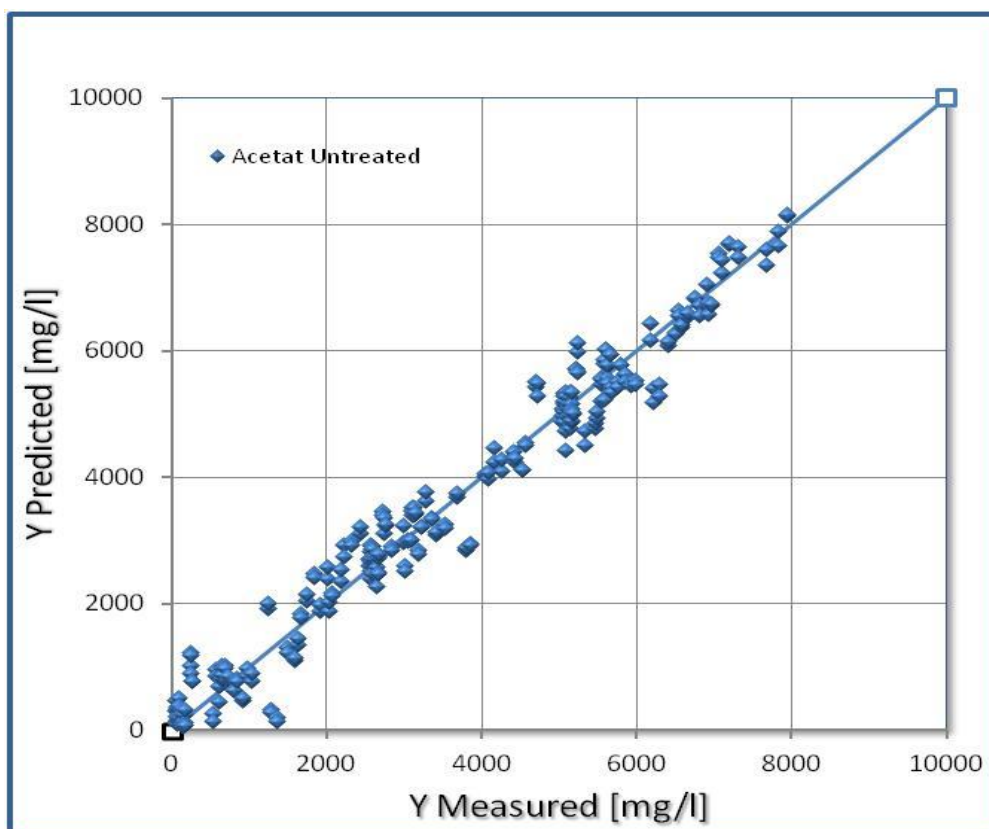
Graf 7-1: Acetat centrifugerat.

Högst upp i tabellerna har vi namnet på komponenten som modelleras samt om datan är från före eller efter provet centrifugerades. Linear regression säger endast vilken typ av beräkning det är, detta fall hitta sambandet mellan x och y. Developed säger vilket datum

modellen beräknades. X block samt Included är namnet på rådatan, antalet prov som tagits med samt våglängden. Motsvarande för Y-block samt Included. Preprocessing har nämnts tidigare i kapitel 4.2 och bestämmer förbehandlingsmetoden. Number of levels, också kallat antalet PLS komponenter, jämför korrelationen mellan X och Y i olika nivåer. Om felet mellan dem är för stor förkastas den nivån och man använder en komponent mindre. Se kapitel 4.2 för beskrivning på RMSEC, RMSECV samt RMSEP. RMSEP är det viktigaste man får från denna tabell. Bias, CV Bias och Pred Bias mäter medelvärde, hur långt från 0 det skär y-axeln. Ett högt bias antyder antagligen på ett systematiskt fel. Alla R^2 används för att bestämma noggrannheten på valideringsdatan; där "Cal" står för kalibrering, "CV" för korsvalidering och "Pred" för prediktion.

Tabell 7-1: Acetat centrifugerat.

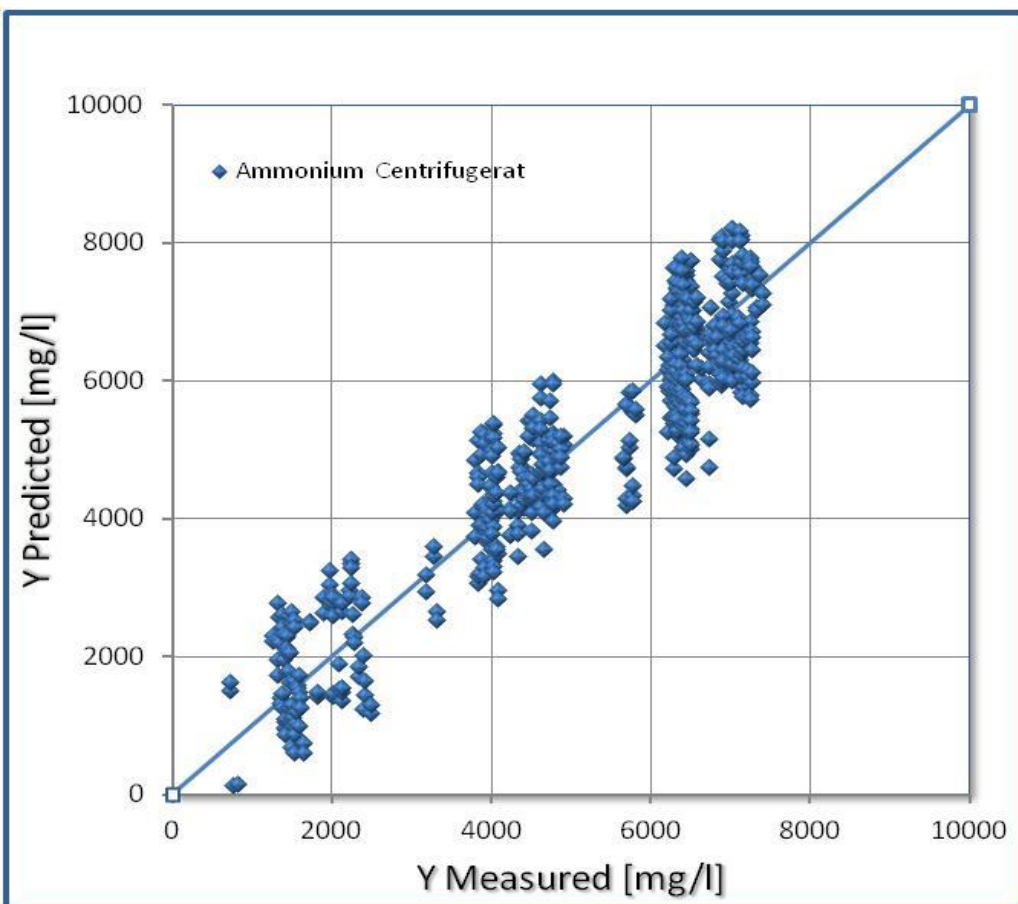
ACETAT CENTRIFUGERAT	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X_val_ace_MIR_centrifug 308 by 870
Included	[1-308][1-870]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 7pt; incl. only, tails: polyinterp), Autoscale
Y-block	Y_val_ace 308 by 1
Included	[1-308][1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	8
RMSEC	342,85
RMSECV	401,315
RMSEP	409,135
Bias	9,09495e-13
CV Bias	1,52535
Pred Bias	2,79575
R² Cal	0,977025
R² CV	0,968523
R² Pred	0,967273



Graf 7-2: Acetat untreated.
(untreated = ocentrifugerat).

Tabell 7-2: Acetat untreated.

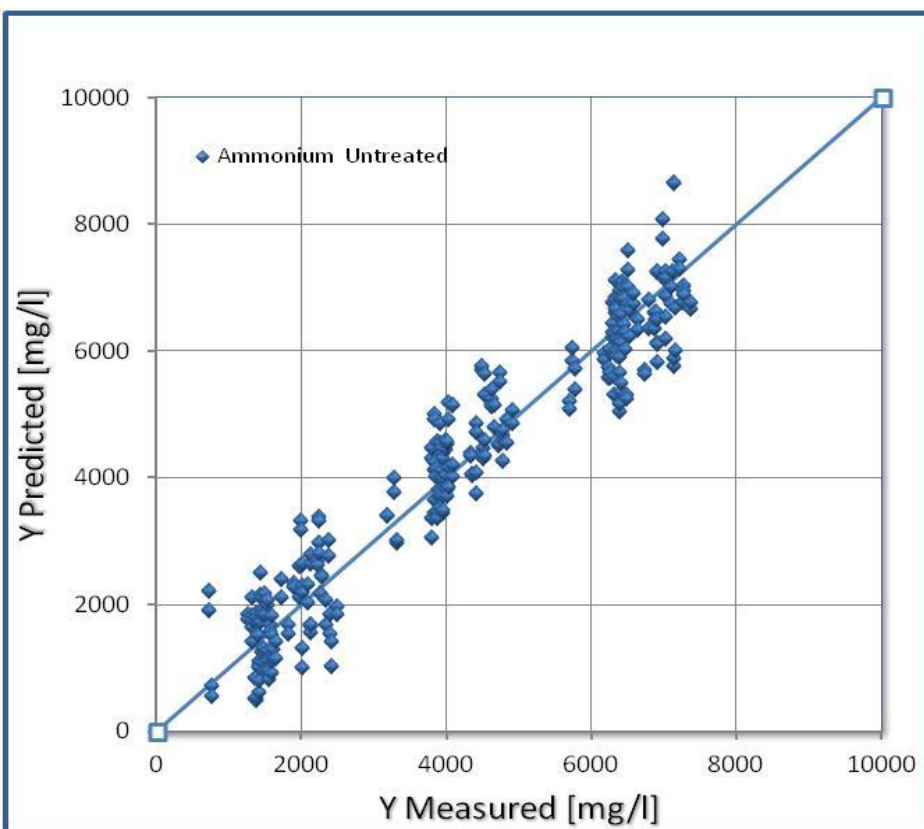
ACETAT UNTREATED	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X_val ace MIR untreated 308 by 744
Included	[1-308][119-862]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 9pt; incl. only, tails: polyinterp), Mean Center
Y-block	Y_val ace 308 by 1
Included	[1-308][1]
Preprocessing	Autoscale
Number of levels	8
RMSEC	370,845
RMSECV	382,644
RMSEP	379,086
Bias	0
CV Bias	0,0484947
Pred Bias	3,77019
R ² Cal	0,973119
R ² CV	0,971384
R ² Pred	0,971858



Graf 7-3: Ammonium centrifugerat.

Tabell 7-3: Ammonium centrifugerat.

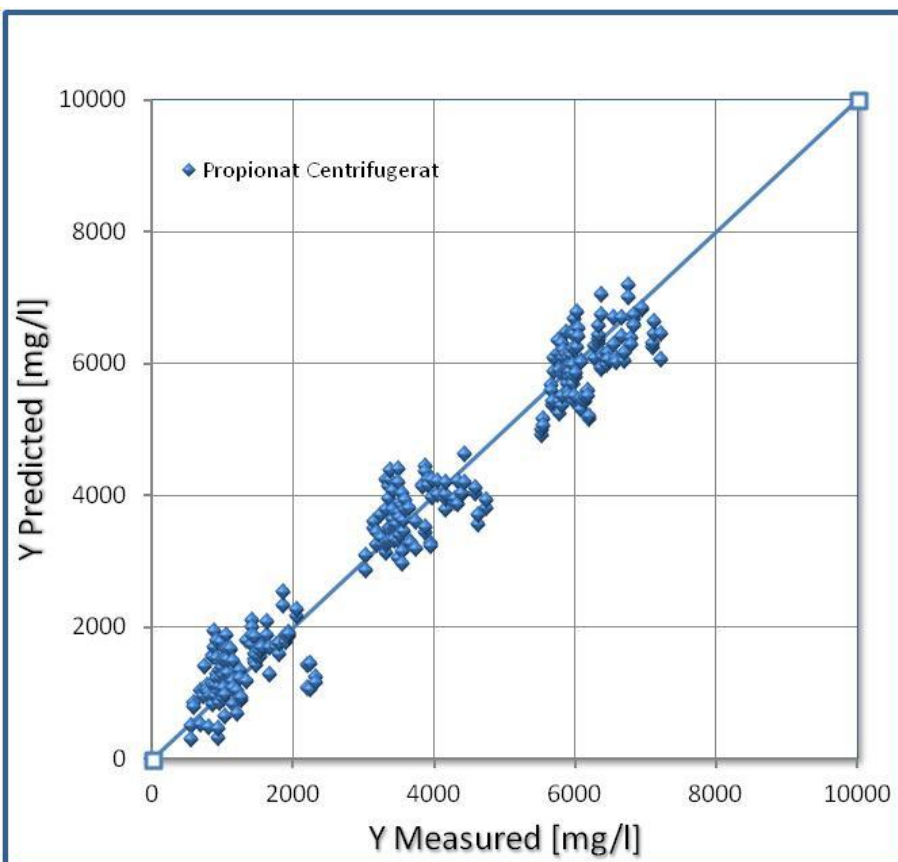
AMMONIUM CENTRIFUGERAT	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X val amm MIR centrifug 306 by 755
Included	[1-138; 141-308][109-863]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 21pt; incl. only, tails: polyinterp), Mean Center
Y-block	Y val amm 306 by 1
Included	[1-138; 141-308][1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	8
RMSEC	664,771
RMSECV	706,366
RMSEP	678,443
Bias	0
CV Bias	2,14828
Pred Bias	42,8809
R ² Cal	0,901327
R ² CV	0,888614
R ² Pred	0,902566



Graf 7-4: Ammonium untreated.

Tabell 7-4: Ammonium untreated.

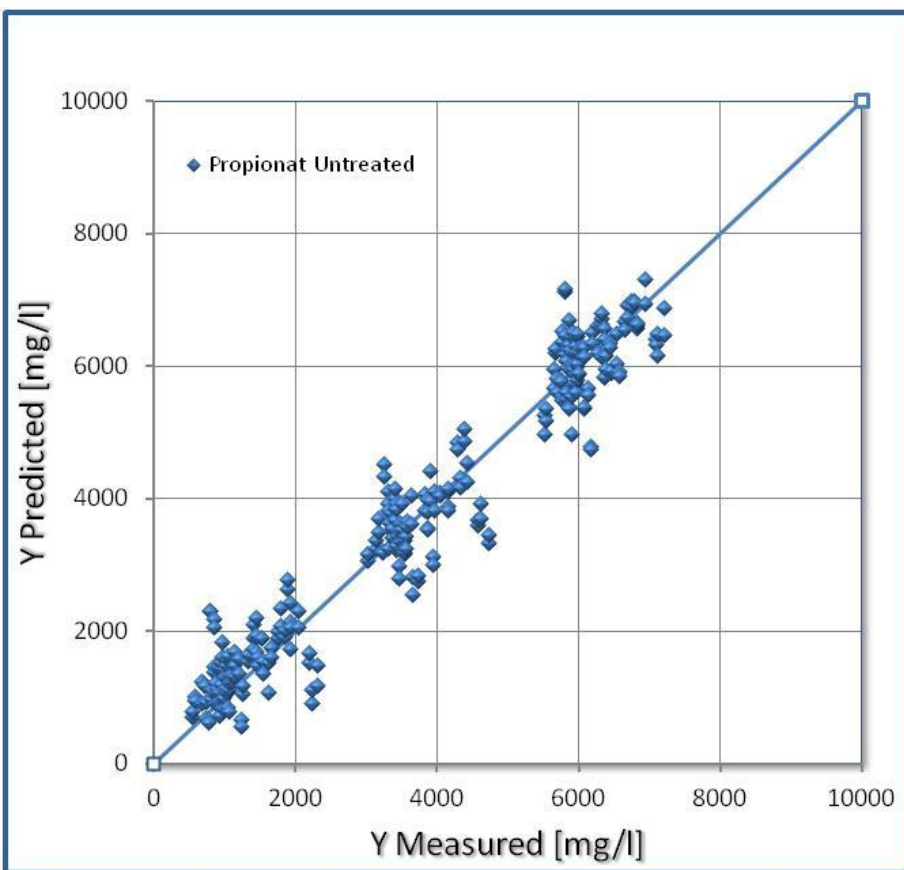
AMMONIUM UNTREATED	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X val amm MIR untreated 308 by 825
Included	[1-308][35-859]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 7pt; incl. only, tails: polyinterp), Mean Center
Y-block	Y val amm 308 by 1
Included	[1-308][1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	10
RMSEC	572,406
RMSECV	640,935
RMSEP	583,955
Bias	2,72848e-012
CV Bias	2,71015
Pred Bias	-7,11704
R ² Cal	0,926842
R ² CV	0,908302
R ² Pred	0,925694



Graf 7-5: Propionat centrifugerat.

Tabell 7-4: Propionat centrifugerat.

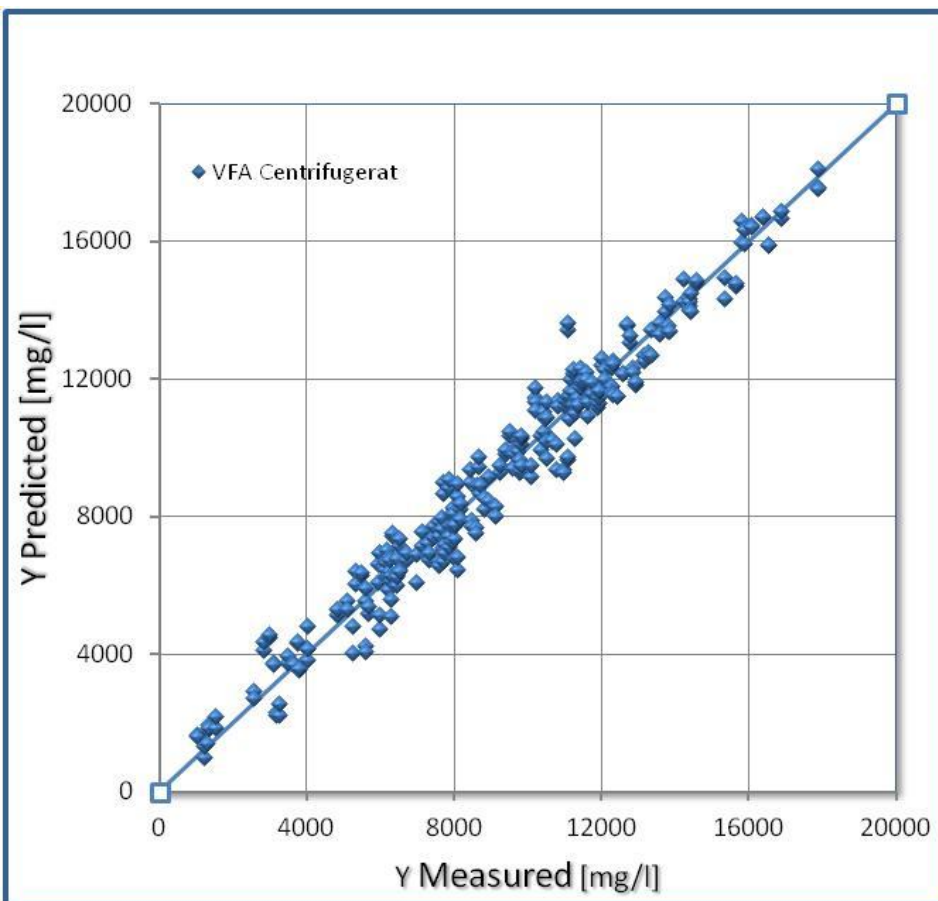
PROPIONAT CENTRIFUGERAT	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X_val_pro MIR centrifug 308 by 870
Included	[1-308][1-870]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 7pt; incl. only, tails: polyinterp), Autoscale
Y-block	Y_val_pro 308 by 1
Included	[1-308][1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	6
RMSEC	387,809
RMSECV	425,941
RMSEP	436,638
Bias	9,09495e-013
CV Bias	0,560265
Pred Bias	-2,24848
R ² Cal	0,966824
R ² CV	0,960021
R ² Pred	0,958668



Graf 7-6: Propionat untreated.

Tabell 7-5: Propionat untreated.

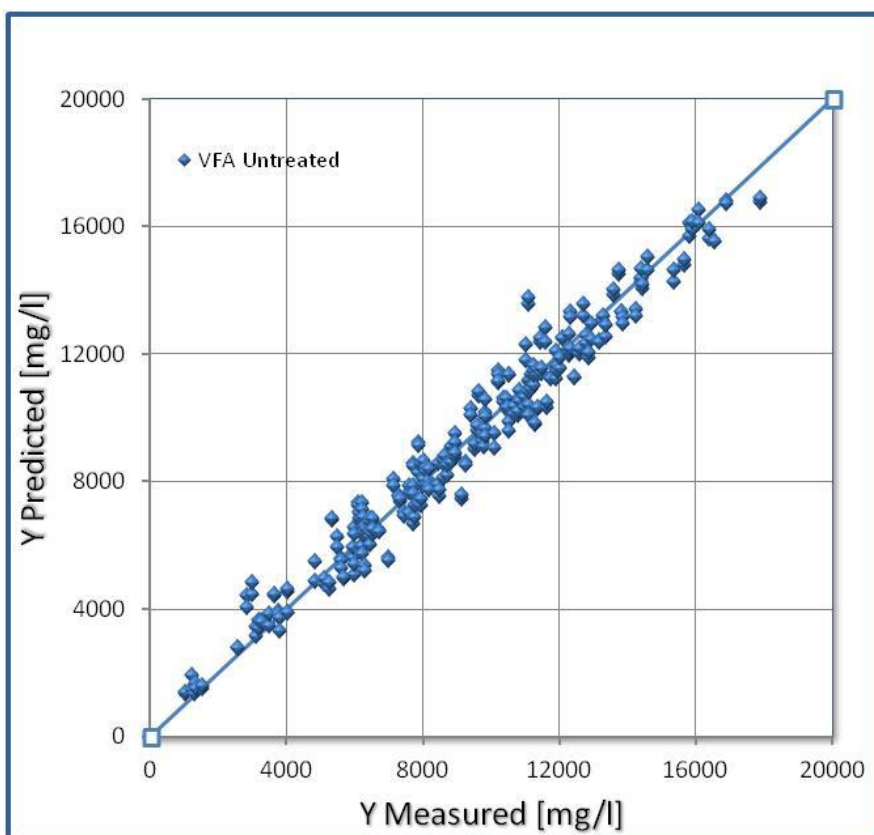
PROPIONAT UNTREATED	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X val pro MIR untreated 308 by 870
Included	[1-308][1-870]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 9pt; incl. only, tails: polyinterp), Autoscale
Y-block	Y val pro 308 by 1
Included	[1-308][1]
Preprocessing	Autoscale
Number of levels	5
RMSEC	518,451
RMSECV	542,414
RMSEP	518,561
Bias	0
CV Bias	-2,83398
Pred Bias	31,5957
R ² Cal	0,940706
R ² CV	0,935236
R ² Pred	0,941044



Graf 7-7: VFA centrifugerat.

Tabell 7-7: VFA centrifugerat.

VFA CENTRIFUGERAT	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X_val VFA MIR centrifug 306 by 870
Included	[1-154; 157-308][1-870]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 7pt; incl. only, tails: polyinterp), Autoscale
Y-block	Y_val_vfa 306 by 1
Included	[1-154; 157-308][1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	6
RMSEC	595,498
RMSECV	653,925
RMSEP	672,103
Bias	1,27329e-011
CV Bias	-0,973671
Pred Bias	-44,947
R ² Cal	0,973341
R ² CV	0,967853
R ² Pred	0,966363



Graf 7-8: VFA untreated.

Tabell 7-8: VFA untreated.

VFA UNTREATED	
Linear regression model using Partial Least Squares calculated with the SIMPLS algorithm	
Developed	15 Aug. 2013
X-block	X_val VFA MIR untreated 308 by 870
Included	[1-308] [1-870]
Preprocessing	1st Derivative (order: 2, window: 7pt; incl. only, tails: polyinterp), Autoscale
Y-block	Y_val_vfa 308 by 1
Included	[1-308] [1]
Preprocessing	Mean Center
Number of levels	6
RMSEC	623,064
RMSECV	660,742
RMSEP	665,526
Bias	-1,81899e-012
CV Bias	0,311353
Pred Bias	-37,9434
R ² Cal	0,970815
R ² CV	0,967192
R ² Pred	0,967063

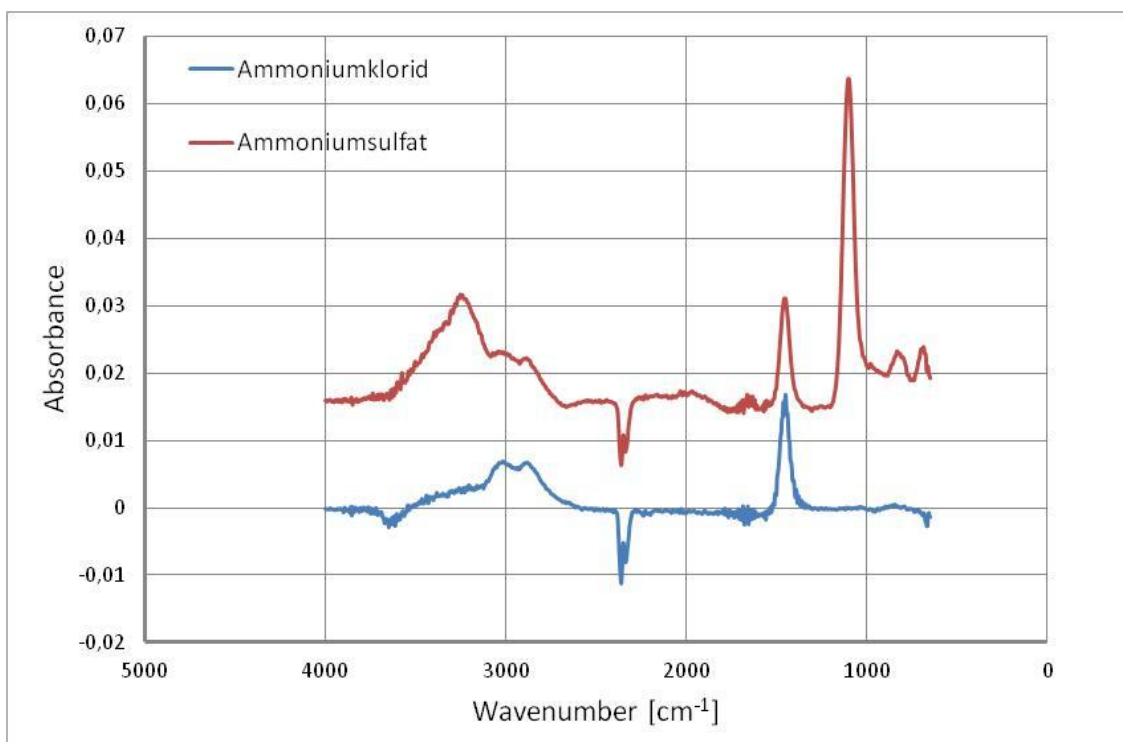
I alla tabeller förutom Pred Bias i ammonium centrifugerat samt propionat ocentrifugerat har vi ett mycket lågt Bias medeltal. Det tyder på korrekta och noggranna mätningar överlag.

RMSEC värdena hos de åtta provsetten varierar mellan 342 för centrifugerat acetat och 664 för centrifugerat ammonium. RMSECV värdena för de åtta provsetten varierar mellan 382 för ocentrifugerat acetat och 706 för centrifugerat ammonium. Både RMSEC och RMSECV värdet skall vara så lite som möjligt och de är tillräckligt små för att få pålitliga resultat. Det är dock den små variationen mellan centrifugerade och ocentrifugerade provset som visar på att resultaten är pålitliga.

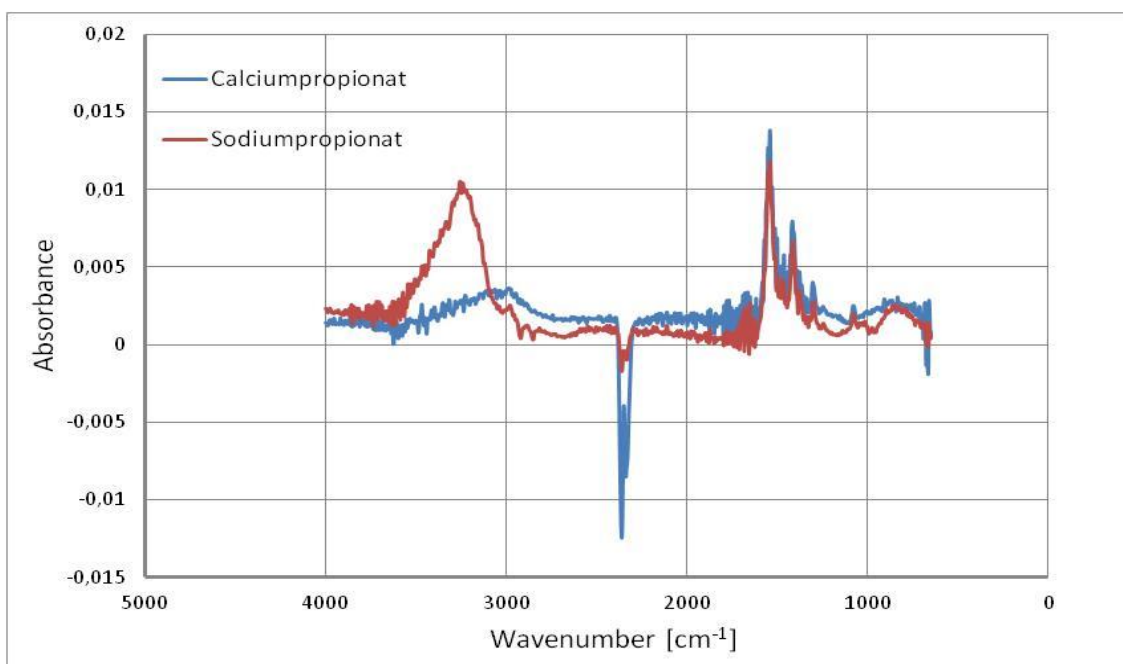
RMSEP värdet skall vara så lite som möjligt. Om vi jämför RMSEP hos de centrifugerade och ocentrifugerade mätningarna är de relativt lika. Acetat har värdet 409 centrifugerat jämfört med värdet 379 ocentrifugerat, ammonium 678 jämfört med 583, propionat 436 jämfört med 518 och VFA har 672 jämfört med 665. Det är anmärkningsvärt att propionats centrifugerade provset har ett lägre värde än det ocentrifugerade i motsats till de övriga tre provsetten men skillnaden är ändå inte tillräckligt stor för att dra en garanterad slutsats. Istället kan man konstatera att centrifugeringen är ett onödigt steg.

Det kan även konstateras att acetat har fått det bästa resultatet eftersom dess RMSEP värde är det lägsta samt att VFA har fått sämsta. Eftersom skillnaderna är relativt små ger det trobara värden, ett stort RMSEP värde skulle ge en svårare kalibrering.

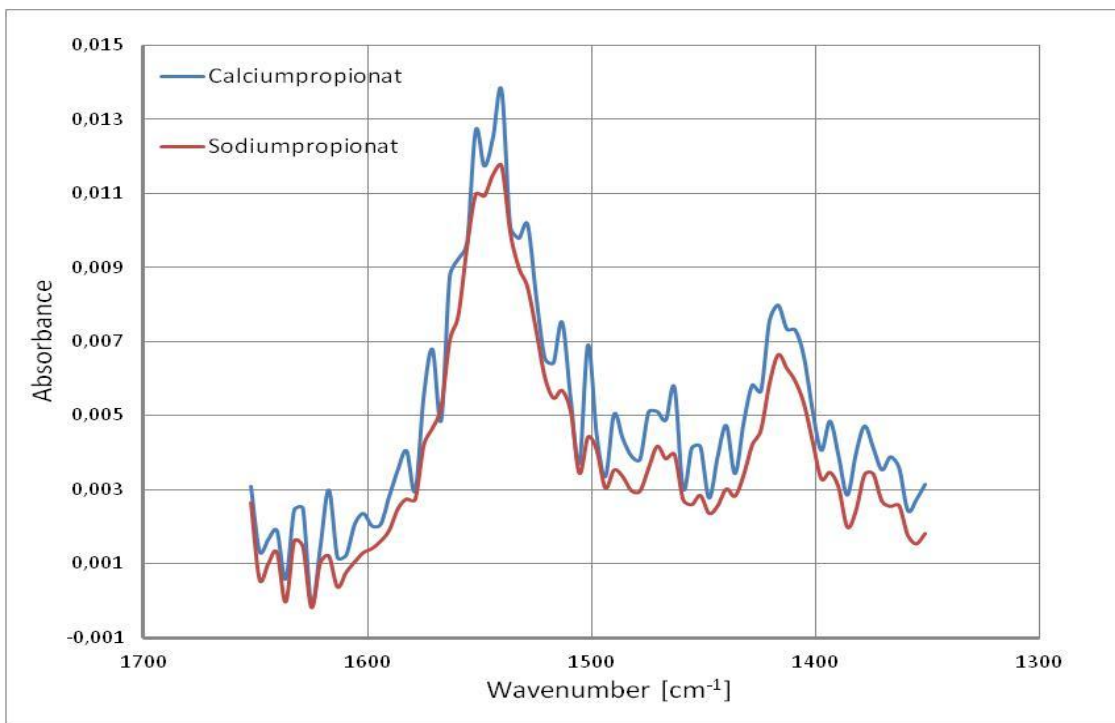
7.2 Saltlösningar



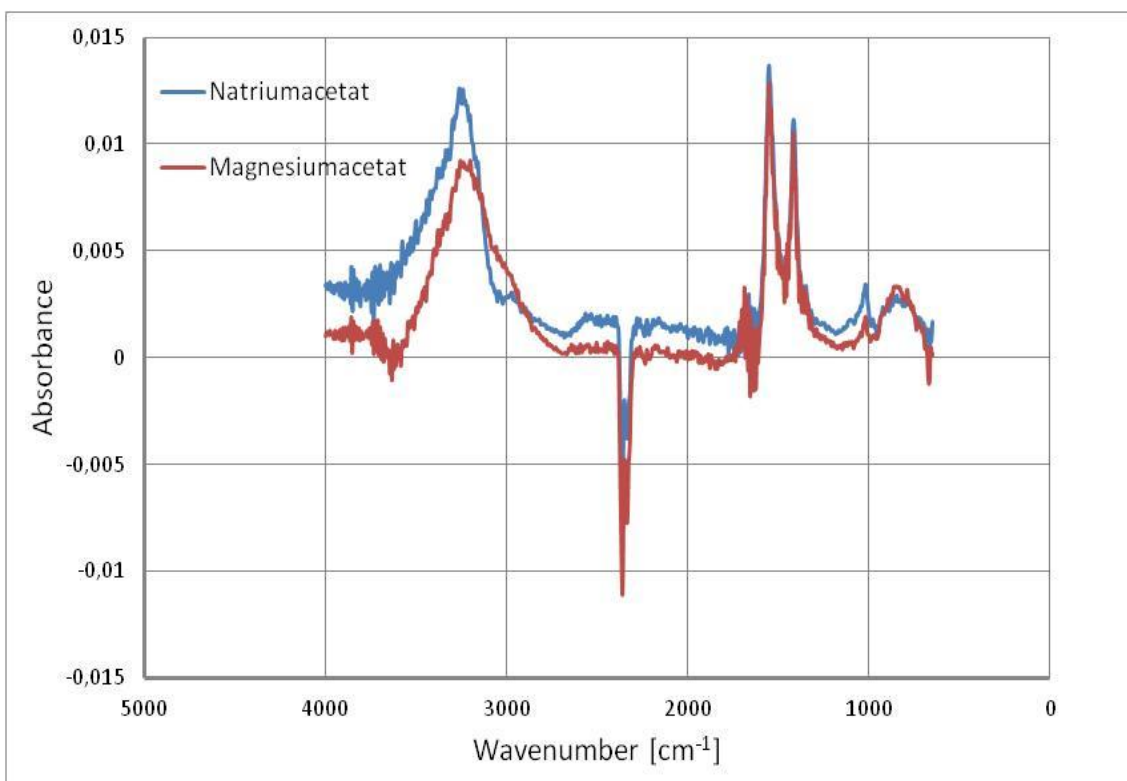
Graf 7-9: Saltlösningarna ammoniumklorid och ammoniumsulfat.



Graf 7-10: Saltlösningarna calciumpropionat och sodiumpropionat.



Graf 7-3: Inzoomad version av graf 7-10 för att tydligare se skillnaderna.



Graf 7-42: Saltlösningarna natriumacetat och magnesiumacetat.

I tabell 7-9 framkommer de olika RMSEC, RMSECV värdena och antalet PLS komponenter för alla saltlösningarna. Det som inte framkommer, eftersom det inte skiljer sig från lösning till lösning, är att autoscale samt alla våglängder har använts d.v.s. hela spektrumet i PLS_toolbox.

Tabell 7-9: Sammanfattning av saltlösningarnas RMSEC, RMSECV värde och antal PLS komponenter.

Saltlösning	RMSEC (mg/l)	RMSECV (mg/l)	PLS komponenter
Acetat	46,353	107,89	12
Ammonium	37,677	67,119	10
Propionat	50,694	119,463	12
VFA	45,242	71,117	10

7.3 Diskussion

Då vi ser på de konsekventa resultaten och jämför de små skillnaderna mellan ocentrifugerade och centrifugerade provset i kategorierna Bias, RMSEC, RMSECV och RMSEP kan vi konstatera att provtagningen och mätningen har överlag gett ett pålitligt resultat.

Vi kan också konstatera att centrifugeringen inte har gjort någon större inverkan på resultaten åt varken den sämre eller bättre riktningen.

Om det skall ske förbättringar på resultatet skall det högst antagligen ske under provens förbehandling t.ex. renare laboratorieförhållanden för att minimera kontamineringen eller under mätningen t.ex. noggrannare kalibrering.

8 Sammanfattning

Från en biogasreaktor i laboratoriestorlek där svinsväm, växthusavfall och fiskrens har använts som substrat har det tagits processprov som spetsats för kalibreringssyfte. En infraröd spektrometer har använts för att analysera provsetten. Utförandet och information om själva provsetten finns inkluderat. Spektrometern gav noggranna resultat som har presenterats i tabellformat. Generellt sett kan man säga att metoden att

använda FT-IR vid mätningen var lyckat tack vare dess snabbhet och relativt låga kostnad.

Även inkluderat finns en kort presentation av infraröd spektroskopi och anaerob rötning innehållande fördelar, nackdelar, teknisk information och annan information för att ge läsaren en grundförståelse för de båda ämnena.

Projektarbetet kan vara av intresse för företag som äger och opererar fullskaliga biogasverk.

8.1 Författarens anmärkningar

Tack till Botnia-Atlantica som finansierat denna projektrapport i samarbete med projekten Mare Purum som stått för FT-IR utrustning och Bio-Bio som stått för processproverna. Projekledaren för Mare Purum, John Dahlbacka, har även bidragit med ovärderlig vetenskaplig kunskap samt råd till författaren.

9 Källförteckning

9.1 Källor

1. Bacher, A. (2014). *ATR protocol (JASCO FTIR-4100)*. Los Angeles: University of California, Department of Chemistry and Biochemistry.
2. Dahlbacka, J. & Fagervik, K. & Weegar, J. & von Weymarn, N. (2012). *On-line measurement of the substrate concentrations in Pichia pastoris fermentations using FT-IR ATR*. Åbo Akademi, enheten för kemiteknik. Åbo.
3. Dahlbacka, J. & Döring, M. & Lillhonga, T. (u.a.). *Designed orthogonal sample spiking based calibrations for quantitative liquid phase measurements with near infrared spectroscopy in an anaerobic digestion process*. Yrkeshögskolan Novia. Vasa/ University of Wismar. Wismar.
4. Dahlbacka, J. (u.å.). *Mare Purum - Kemiska, biologiska och spektroskopiska studier av strömmar i biologisk avloppsvattenrening*.
<http://www.novia.fi/FoU/projekt/fou-projekt-miljo-och-energiteknik/fou-projekt-Mare-Purum/> (hämtat: 1.10.2013).
5. Döring, M. (2011). *Quantitative Liquid Phase Near Infrared Spectroscopy of an Anaerobic Digestion Process*. Avhandling för process- och miljöingenjörskandidatexamen. Hochschule Wismar, department of mechanical engineering, Wismar.
6. Eigenvector Research, Inc (u.a.). *PLS_Toolbox*.
http://www.eigenvector.com/software/pls_toolbox.htm (hämtat: 30.01.2014). Wenatchee, USA.
7. Eigenvector Research, INC. (2013).
http://wiki.eigenvector.com/index.php?title=Using_Cross-Validation#Choosing_the_Cross-Validation_Method. (Hämtat 25.5.2014). Wenatchee, USA.
8. Energigas Sverige. (u.å.).
<http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning> (hämtat 20.01.2014). Stockholm.

9. Energigas Sverige. (u.å.).
[http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning/VadArBiogas/Energii
nnehall](http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning/VadArBiogas/Energii
nnehall) (hämtat 22.01.2014). Stockholm.
10. Energigas Sverige. (u.å.).
[http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning/VadArBiogas/RentoS
akert](http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning/VadArBiogas/RentoS
akert) (hämtat 23.01.2014). Stockholm.
11. Energigas Sverige. (u.å.).
<http://www.biogasportalen.se/FranRavaraTillAnvandning/Produktion> (hämtat
24.01.2014). Stockholm.
12. Gigliotti, G. Malerba, A. Pezzolla, D. & Provenzano, M. (2013). *Chemical and spectroscopic characterization of organic matter during the anaerobic digestion and successive composting of pig slurry*. Dipartimento de Scienze del Suelo, University of Bari/ Dipartimento Ingegneria Civil e Ambientale, University of Perugia. Italien.
13. Grdadolnik, J. (2002). *ATR-FTIR Spectroscopy: Its advantages and limitations*. National Institute of Chemistry. Ljubljana, Slovenia.
14. Hiroshi, O. (2013). FTIR Spectroscopy Excels at Gas Analysis
[http://www.chromatographytechniques.com/articles/2013/02/ftir-
spectroscopy-excels-gas-analysis](http://www.chromatographytechniques.com/articles/2013/02/ftir-
spectroscopy-excels-gas-analysis). (Hämtat 8.2.2014). Analytical & Measuring Instrument Division, Shimadzu Scientific Instruments. Columbia.
15. Kwan, K. (1998). *The Role of Penetrant Structure on the Transport and Mechanical Properties of a Thermoset Adhesive*. Kapitel 4. Avhandling för doktorsexamen. Virginia Tech, Department of material science and engineering, Blacksburg.
16. Meissl, K. & Smidt, E. (2006). *The applicability of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management*. Department of Water, Atmosphere and Environment, University of Natural Resources and Applied Life Sciences. Wien, Österrike.
17. Setnička, V. (u.å.). *FT-IR Reflection Techniques*.
<http://www.vscht.cz/anl/vibspec/FTIR%20Reflection%20Techniques.pdf>
(hämtat: 10.12.2013).

18. The MathWorks Inc. (2014).
http://www.mathworks.se/products/matlab/?s_tid=hp_fp_ml (hämtat 31.01.2014). Natick, USA.
19. The MathWorks Inc. (2014).
<http://www.mathworks.se/products/matlab/description1.html> (hämtat 31.01.2014). Natick, USA.
20. Warrel, J. & Svensson, B. (2014). Brytningsindex
<http://www.ne.se/lang/brytningsindex> (hämtat: 11.12.2013).
 Nationalecyklopedin.
21. Yrkeshögskolan Novia (u.å.). *Forskning och utveckling*. <http://www.novia.fi/FoU/> (hämtat: 1.10.2013).
22. Yrkeshögskolan Novia (u.å.). *Hållbar energiteknik*. <http://www.novia.fi/FoU/fou-omraden/fou-miljo-och-energiteknik/> (hämtat: 1.10.2013).

9.2 Bilder och Figurer

Figur 2-2:

http://www.biogasportalen.se/~media/Images/www_biogasportalen_se/BiogasI SverigeOchVarlden/VadArBiogas/BiogasprocessenESwebb.ashx?mw=460

Figur 2-3:

<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/58/Methane-3D-balls.png>